Schnelle photoelektrische Effekte der Alge Acetabularia

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der
Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Claus Schilde
aus Potsdam
1968

9711

Schnelle photoelektrische Effekte der Alge Acetabularia

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der
Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Claus Schilde
aus Potsdam
1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547604_0017

Einleitung

Die zwischen zwei Stellen eines Blatts gemessene elektrische Potentialdifferenz läßt sich reversibel durch Verdunkeln des Blatts verkleinern. Dieses Phänomen entdeckte Otto HAAKE vor mehr als 75 Jahren und beschrieb es in seiner Dissertation "Über die Ursachen electrischer Ströme in Pflanzen". Da das Licht keinen Einfluß auf die an chlorophyllfreien Blumenblättern meßbaren elektrischen Spannungen hatte, schloß er auf einen ursächlichen Zusammenhang zwischen den photoelektrischen Erscheinungen und der Kohlensäureassimilation. In der Folgezeit erschienen zahlreiche Veröffentlichungen über photoelektrische Potentiale der Pflanzen. Die Ursachen dieser Effekte sind uns aber immer noch ein Rätsel. - Die Literatur bis zum Jahre 1937 stellte BÜNNING zusammen. MARSH (1939; 1940) gab eine kritische Übersicht. Die insbesondere unter dem Gesichtspunkt der Stoffaufnahme, Permeabilitäts- und elektrischen Widerstandsänderung erfolgten Untersuchungen referierte L. BRAUNER (1956). - Die Photoelektrischen Reaktionen sind stark von der Temperatur (WALLER 1900) abhängig und werden durch Kohlendioxid verstärkt (BROWN 1938). Im Gegensatz zu HAAKE (1892), WALLER (1929) und GLASS (1933), die an chlorophyllfreien Geweben keine durch Licht induzierbaren elektrischen

---

Verwendete Abkürzungen: ERP early receptor potential
PEP photoelectric potential
LE Längeneinheit

Potentialänderungen feststellen konnten, beobachteten BOSE (1907) und L. und M. BRAUNER (1938) photoelektrische Reaktionen auch an nicht grünen Pflanzenorganen. - Die Einführung von mit Salzlösungen gefüllten Glaskapillaren zur intrazellularen Potentialmessung ermöglichte es, die Wirkung des Lichts auf die Membranpotentiale einzelner Zellen zu messen (MARSH 1936).[x] MARSH (1939) und BLINKS (1940) führten die photoelektrischen Reaktionen der marinen Algen Valonia und Halicystis auf eine Wirkung des durch die Photosynthese produzierten Sauerstoffs zurück. MARSH (1940) untersuchte an Valonia die

---

[x] Es wird dabei die elektrische Spannung zwischen einer intrazellularen Elektrode und einer Bezugselektrode, die in die die Zelle umgebende Lösung taucht, gemessen. Da das Potential der Bezugselektrode gleich Null gesetzt werden kann, gebraucht man für die Bezeichnung der Potentialdifferenz zwischen den beiden Seiten der Zellmembran auch häufig den Ausdruck Membranpotential. Die zwischen Vakuole und Referenzelektrode gemessene Potentialdifferenz wird als Vakuolenpotential bezeichnet. Die Abnahme der zwischen Meß- und Referenzelektrode gemessenen elektrischen Spannung heißt Depolarisation, die Zunahme Hyperpolarisation. Da das Potential der Vakuole negativ gegenüber dem die Zelle umspülenden Seewasser ist, bedeutet eine Depolarisation ein Größerwerden des Vakuolenpotentials und wird auch Positivierung genannt (SCHILDE 1968).

Abhängigkeit der photoelektrischen Reaktion von der Wellenlänge des eingestrahlten Lichts und kam zu dem Schluß, daß das wirksame Licht durch das Chlorophyll absorbiert wird. NAGAI und TAZAWA (1962) fanden an der Characee Nitella eine Wirkung des roten und blauen aber nicht des grünen Lichts und bestätigten damit die Ergebnisse von S.O. BROWN (1938), MARSH (1940) und NISHIZAKI (1960).

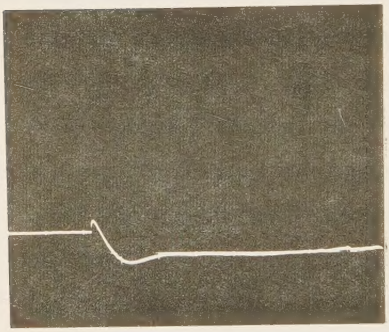
Um die Vermutungen zur Rolle der Chloroplasten bei der Wirkung des Lichts auf das Ruhepotential zu prüfen, nahm SCHILDE (1966) durch intrazellulare Messung des Vakuolenpotentials an der Meeresalge Acetabularia crenulata das Aktionsspektrum der photoelektrischen Reaktion zwischen 400 und 800 nm mit 34 Meßpunkten auf. Acetabularia reagiert auf Lichtbeginn mit einer Hyperpolarisation und auf Lichtende mit einer Depolarisation. Beide Male durchläuft die zwischen Vakuole und Seewasser gemessene elektrische Spannung einen Extremwert und schwingt dann auf einen dem Ausgangswert nahe liegenden Betrag ein (Abb. 1 und 2). Die Extremwerte werden in Abhängigkeit von der Intensität des eingestrahlten Lichts nach Minuten oder Bruchteilen von Minuten nach An- oder Abschalten des Lichts erreicht. - Die Ähnlichkeit des Aktionsspektrums der elektrischen Spannungsdifferenz zwischen den Extremwerten der Hyper- und Depolarisation nach Anfang und Ende einer Lichtstufe mit dem Aktionsspektrum der Photosynthese machte die Wirkung des Lichts über die Chloroplasten wahrscheinlich.

BROWN und MURAKAMI (1964a) entdeckten durch intraretinale extrazelluläre Messung am Auge des Javaneraffen ein neues, sehr schnelles, nur auf sehr helle Lichtblitze hin auftretendes Rezeptorpotential. Dieses "early receptor potential", ERP, war biphasisch und hatte eine Latenzzeit von höchstens 25 ms (BROWN und MURAKAMI 1964b). Die beiden Phasen des ERP zeigten die gleiche spektrale Empfindlichkeit wie die b-Welle des Elektroretinogramms und fielen mit der Absorptionskurve des Rhodopsins zusammen. Für einen Blitz maximaler Energie hing die Amplitude des ERP von der Menge des noch nicht gebleichten Rhodopsins ab. Sie war proportional der Menge des durch den Blitz gebleichten Rhodopsins (CONE 1964). Danach scheint es sicher, daß das Licht das ERP über das Rhodopsin auslöst. - Schnelle elektrisch meßbare Reaktionen auf Licht sind aber nicht auf die Rezeptorzellen von Lichtsinnesorganen beschränkt. Der Komplex aus Pigmentepithel und Chorioidea aus dem Auge der Kröte und die Haut des Frosches zeigen dem ERP ähnliche Effekte. K.T.BROWN (1965), K.T.BROWN und GAGE (1966), BECKER und CONE (1966). - ARDEN und Mitarbeiter (1966a) sowie EBREY (1967; 1968) zeigten, daß schnelle photoelektrische Effekte auch an grünen Blättern beobachtet werden können. Die durch starke Lichtblitze induzierten Spannungsänderungen waren ebenso wie die an tierischen Geweben beobachteten bei extrazellulärer Ableitung biphasisch. Nur die grünen Bezirke der panaschierten Blätter der Buntnessel Coleus blumei reagierten. - Die Blätter höherer

Pflanzen sind ungünstige Objekte für die Lösung der Fragen biophotoelektrischer Phänomene. Ständig vorhandene elektrische Spannungen zwischen den verschiedenen Teilen der Blätter werden durch unterschiedliche Beleuchtungsänderung oder durch unterschiedliche Reaktion bei gleichem Beleuchtungswechsel verändert (HAAKE 1892; MARSH 1939). Für die Erforschung der Primärprozesse der schnellen photoelektrischen Effekte scheinen intrazelluläre Messungen, wie sie jetzt vom Limulusauge (SMITH und BROWN 1966) vorliegen, von großem Vorteil. Eine Überlagerung der Reaktionen zahlreicher Zellen und verschiedener Gewebe werden vermieden. Die an den Zellmembranen tatsächlich vorhandenen elektrischen Potentialdifferenzen lassen sich mit nur kleinen Fehlern messen. Außerdem sind die Bedingungen, unter denen das Experiment stattfindet, leichter zu kontrollieren. - Einzellige Pflanzen der Gattung Acetabularia wie auch die Internodialzellen der Characeen erscheinen daher zur Untersuchung der photoelektrischen Reaktionen besser geeignet als Blätter höherer Pflanzen. Gegenüber den Lichtsinneszellen der Vertebraten und Arthropoden haben sie den Vorzug bedeutend größer zu sein. Sie werden mehrere Zentimeter lang und ihr Durchmesser kann mehr als einen halben Millimeter betragen. Der Anstich dieser Zellen mit Mikroglaskapillaren ist daher relativ leicht durchzuführen. Da das Verhältnis der verletzten zur heilen Zellmembran klein ist, haben die Zellen gute Überlebenschancen.

Die Acetabularia crenulata hatte sich als geeignetes Objekt für die Untersuchung der langsamen Veränderungen

des Vakuolenpotentials bei Beginn und Ende einer Beleuchtung der Zelle erwiesen (SCHILDE 1966). So wählte ich die gleiche Art zur Analyse der schnellen elektrischen Reaktionen der grünen Zelle auf starkes Licht. Die Abb. 1 zeigt den Verlauf des Vakuolenpotentials nach Beginn, Abb. 2 nach



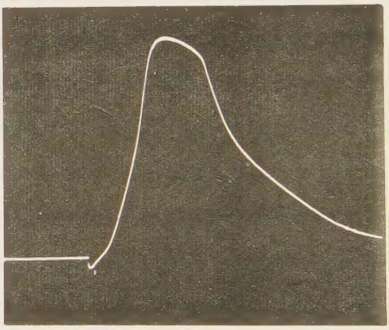


Abb.1 Abb.2

Abb.1 Schneller und langsamer An-Effekt.
Abb.2 Schneller und langsamer Aus-Effekt.
Abszisse 20s/LE; Ordinate 10 mV/LE. Ganze Zelle beleuchtet ungefähr 25×10^5 erg/cm^{2}s. Der Nullpunkt liegt wie bei allen abgebildeten Oszillogrammen oben außerhalb des Bildes. Wegen der langsamen Zeitablenkung fallen schneller An- und Aus-Effekt praktisch mit dem Beginn und dem Ende der Lichtstufen zusammen. Weitere Erklärung siehe Text.

Ende der Beleuchtung einer Zelle. Die Depolarisation nach Verdunkeln übertrifft die Hyperpolarisation nach Beginn des Lichts bei weitem. Der Hyper- und Depolarisation

gehen jeweils Ausschläge in umgekehrter Richtung voraus. Sie beginnen mit einer schnellen Spannungsänderung, die sich auf den Abb.1 und 2 als dünner Auf- bzw. Abstrich erkennen läßt. Diese raschen Reaktionen bezeichne ich als den schnellen photoelektrischen An- bzw. Aus-Effekt. Die spitze Zacke, wie sie bei kurzen Lichtpulsen oder Blitzen auftritt, bezeichne ich als den schnellen photoelektrischen Effekt. Abb.3 zeigt den Verlauf des Vakuolenpotentials nach Beginn einer Lichtpulsfolge. Die schnellen photoelektrischen Effekte sitzen einer langsamen De- und Hyper-

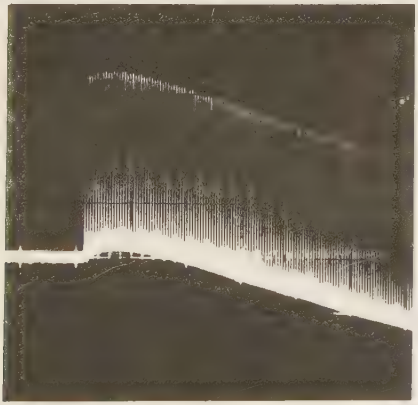


Abb.3 Nachdem die Zelle für 3 min dunkel gehalten wurde, beginnt eine Lichtpulsfolge. Rotierende Sektorenblende, 20 Lichtimpulse/s; ungefähr 25×10^6 erg/cm^{2}s; 25°C; Abszisse 1 s/LE; Ordinate 2,5 mV/LE.

polarisation auf. Die nähere Untersuchung des schnellen photoelektrischen Effekts ist die Aufgabe dieser Arbeit.

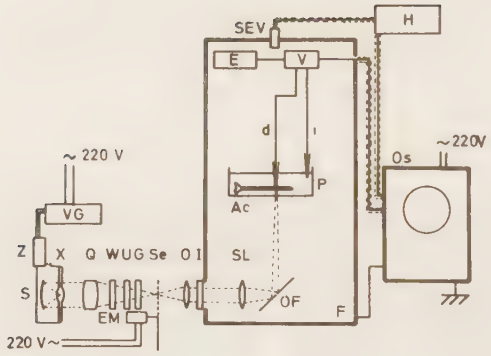


Abb. 4. Versuchsaufbau, nicht maßstabsgetreu.

Ac - Acetabularia
d - differente (Meß-) Elektrode
E - Energieversorgung des Vorverstärkers
EM - Elektromotor
F - Faradaykäfig
G - Graufilter
H - Hochspannungsgerät für den SEV
i - indifferente (Vergleichs-) Elektrode
I - Interferenzfilter
O - Objektivlinse
Of - Oberflächenspiegel
Os - Oscilloscop
P - Petrischale
Q - Quarzlinse
S - Spiegel
SE - Sektorenblende
SEV - Sekundärelektronen-vervielfacher
SL - Sammellinse
U - UV-Filter
V - Vorverstärker
VG - Vorschaltgerät d. Xenonlampe
W - Wärmefilter
X - Xenonhochdrucklampe
Z - Zündgerät d. Xenonlampe

Material und Methoden

1. Anzucht der Zellen.

Die Kultur der Zellen erfolgte nach HÄMMERLING (1944) und BETH (1953) bei ca 1500 Lux (Leuchtstoffröhren Osram L/25 und L/15) unter einem 12:12 Stunden Licht-Dunkel-Wechsel und 25°C. Zellen mit einem ungefähren Durchmesser von 0,4 mm und 3 bis 4 cm Länge wurden mindestens eine Woche vor ihrer Verwendung aus der Kulturlösung in Seewasser (Biologische Anstalt Helgoland, Litoralstation List) und Dauerlicht von 1000 Lux übertragen.

2. Versuchsaufbau.

Die Abb.4 zeigt die Versuchsanordnung. Während der Messungen befanden sich die Zelle und der Vorverstärker in einem die elektrischen Störungen und Licht abhaltenden, geerdeten Blechkasten. Die Acetabularia wurde auf dem Boden einer Petrischale durch einen auf sie gelegten Objektträger festgehalten. Die Beleuchtung erfolgte von unten über einen Oberflächenspiegel durch ein seitlich im Kasten befindliches Loch. Als Lichtquelle diente wahlweise ein Fotoblitz Braun-Hobby F21 mit einer Anstiegszeit von 0,25 ms oder eine Xenonhochdrucklampe (Osram XBO 450 W) in einer Anordnung, wie sie MOHR und SCHOSER (1960) beschrieben. Lichtstufen wurden durch Öffnen und Schließen des Verschlusses eines Fotoapparates, Lichtblitze durch eine rotierende Sektorenblende (Licht:Dunkel = 1:22) erzeugt. Alle verwendeten Lichtfilter stammten von der Firma Schott und Gen., Mainz. Von dem durch die Firma Leitz, Wetzlar, nach den Plänen von MOHR und SCHOSER (1960)

gebauten Lampengehäuse wurde die Bodenplatte entfernt, und die mit Ozon und Stickoxiden angereicherte heiße Abluft mit Hilfe eines kräftigen Ventilators durch einen Metallschlauch ins Freie befördert. Um hohe Lichtintensitäten zu erzielen wurde das Licht, nachdem es die Filter nahezu parallel passiert hatte, nach dem Eintritt in den Blechkasten auf eine Kreisfläche mit einem Durchmesser von ungefähr 4 mm fokussiert. Im Zentrum dieses Lichtflecks erfolgte der Einstich der Glaskapillarelektrode in die Vakuole im oberen Drittel der Zelle dicht neben dem Rand des die Zelle festhaltenden Objektträgers. Der Untersuchung der Abhängigkeit des Effekts von der Lichtqualität dienten Interferenzfilter der Typen DIL und DEPIL. An den äußersten Enden des Aktionsspektrums wurde mit Linienfiltern (IL) gemessen. Die absoluten Energiebeträge des eingestrahlten Lichts konnten mit einer geeichten Anordnung (MOHR und SCHOSER 1959), bestehend aus der Thermosäule E1 der Firma Kipp und Zonen, Delft, abgedeckt mit einem Filter WG 5 und einem Multiflex-Galvanometer vom Typ MG 0 von Lange, Berlin, abgeschätzt werden. Der Vergleich der Lichtenergien, die von den einzelnen Filtern durchgelassen wurden, erfolgte mit der gleichen Thermosäule und dem µ-Amperemeter Micrograph Bd 1, gleichfalls von der Firma Kipp und Zonen. Um die empfindliche Fläche der Thermosäule voll ausleuchten zu können, erfolgten die Energiemessungen an dem nicht fokussierten Lichtbündel.

3. Veränderung der Temperatur.

Zur Untersuchung der Temperaturabhängigkeit des Effekts wurde der Blechkasten jeweils bei schwacher Beleuchtung geöffnet, ein Teil des Seewassers, in dem die Zelle sich befand, gegen kälteres oder wärmeres ausgetauscht, gemischt und der Kasten geschlossen. Nach jeweils drei Minuten erfolgte die Messung des Effekts; sofort wurde der Kasten geöffnet, die Temperatur abgelesen und wiederum ein Teil des Wassers gegen eine entsprechende Menge von anderer Temperatur ausgetauscht.

4. Elektrische Meßanordnung.

Als Meß- und Referenzelektroden dienten mit 3 mol KCl-Lösung gefüllte Mikroglaskapillaren (Spitzendurchmesser 1-2 µ), gezogen auf einem Gerät, wie es BURCKHARDT (1959) beschrieb. Der das Potential abgreifende in die KCl-Lösung eintauchende chlorierte Silberdraht war durch den Metallmantel der Elektrodenhalter vor direkter Beleuchtung geschützt. Auch bei stärksten Lichtblitzen beobachtete ich keine artifiziellen Photoeffekte. Die Elektroden waren über ein Elektrometer Modell 605 der Firma Keithley Instruments an die Verstärker eines Zweistrahloscilloscops Tektronix 502A angepaßt. Beide Verstärker waren mit dem Vorverstärker gleichspannungsgekoppelt. Ihre Einstellung auf kleinere und größere Empfindlichkeit ermöglichte die Überwachung des Vakuolenpotentials und damit der Vitalität der Zelle und gleichzeitig die verstärkte Wiedergabe kleiner

Spannungsänderungen. Eichung und Kompensation der Eingangskapazität der Meßanordnung erfolgte entweder durch Anlegen einer Eichspannung des Rechteckimpulsgenerators des Oscilloscops zwischen die indifferente Elektrode und die Erdung, oder über den Integrator Keithley Modell 6052. Der zeitliche Verlauf der Lichtblitze wurde mit Hilfe eines Sekundärelektronenvervielfachers der Firma G. Maurer, Neuffen, Württemberg, Typ M 12 p 2 beobachtet. Die Bilder auf dem Oscilloscopschirm wurden mit einer Rolleiflex auf 30 DIN-Filmen fotografiert.

Ergebnisse

Der schnelle photoelektrische Effekt als Reaktion auf einen Lichtblitz beginnt nach einer Latenzzeit von 40 µs mit einer schnellen Positivierung des Vakuolenpotentials. Der Maximalwert wird nach etwa einer Milli-

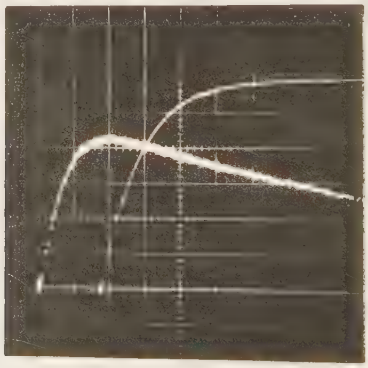


Abb.5. Der schnelle photoelektrische Effekt (dicke Linie). Beginn mit dem Einsetzen (erste senkrechte Rasterlinie)des Blitzes (dünne Linie), Blitzgerät Braun-Hobby F21. Der Blitzanstieg (abwärts) wurde nicht aufgezeichnet. Nach 4 ms ist der Blitz fast völlig abgeklungen, die schnelle Depolarisation aber erst auf 2/3 ihres Maximalwertes abgefallen. Abszisse 0,5 ms/LE; Ordinate 1 mV/LE.

sekunde erreicht. Der Rückgang in Richtung des Ausgangswerts erfolgt langsamer als die Depolarisierung (Abb.5). Das Erreichen des Ausgangswerts wird durch Lichtgenuß der Zelle vor dem Blitz verzögert. Erhielt die Zelle vor dem Blitz reichlich Licht, so durchläuft das Vakuolenpotential in der an den Blitz anschließenden Dunkelheit ein zweites Maximum.

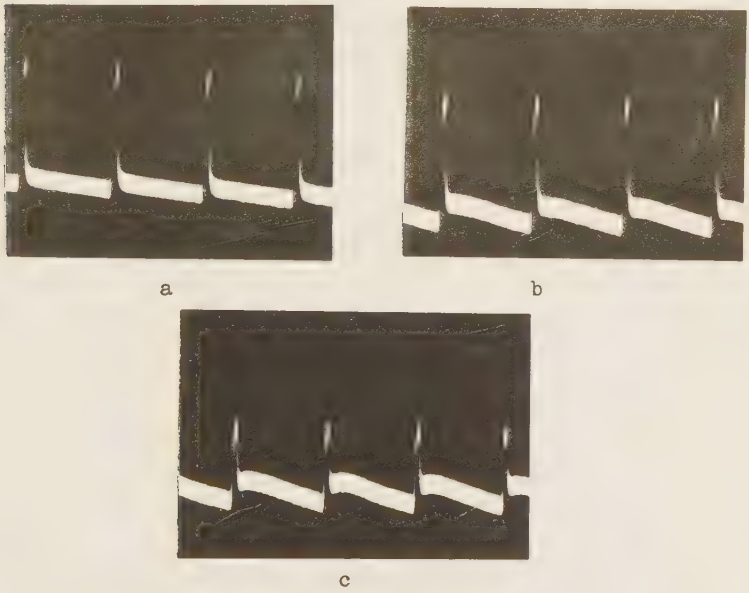


Abb.6. Das Entstehen des Depolarisationsmaximums in der Dunkelphase zwischen den Lichtblitzen, nachdem die Zelle vor dem ersten Lichtblitz für 20 min dunkel gehalten wurde. Ruhepotential bei -160 mV; 25°C; a. 30s, b. 3min, c. 6 min nach Beginn des fortwährenden Blitzens; rotierende Sektorenblende; Halbwertsdauer der Lichtpulse 25 ms; $5x10^6$ erg/cm^{2}s; Abszisse 0,2 s/LE; Ordinate 1 mV/LE.

Wird eine Zelle, die vorher im Dunkeln gehalten worden war, einer Folge von Lichtblitzen ausgesetzt, so zeigt die Beobachtung des Vakuolenpotentials der Zelle das Entstehen dieses Depolarisationsmaximums in der zwischen den Lichtpulsen liegenden Dunkelphase mit dem Lichtgenuß. Die Amplitude des schnellen photoelektrischen Effekts nimmt dabei ab(Abb.6).

Bei niedrigen Lichtintensitäten ist die Amplitude des schnellen photoelektrischen Effekts der eingestrahlten

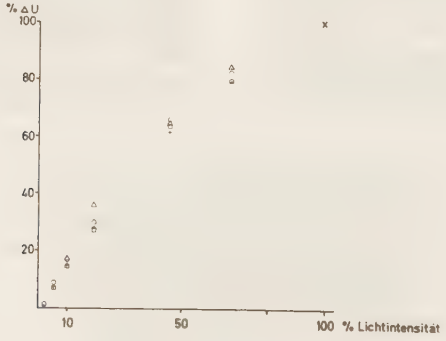


Abb.7. Die schnelle Depolarisierung als Funktion der eingestrahlten Lichtintensität. 100% Lichtintensität entsprechen ungefähr 25×10^6 erg/cm^{2}s. Die mit dieser maximalen Lichtintensität erreichte schnelle Depolarisierung ΔU (5,6 - 6,1 mV) wurde für jede Zelle gleich 100% gesetzt. Rotierende Sektorenblende, ungefähr 5 Lichtpulse (Halbwertsdauer 25 ms) nach jeweils 3min Dunkelheit, die Reaktion auf den ersten oder zweiten Lichtpuls wurde gemessen. Meßwerte von vier Zellen. 24 - 25°C.

Energie proportional, bei höheren Intensitäten scheint sie sich einem Sättigungswert zu nähern, der aber mit den zur Verfügung stehenden Lichtquellen nicht erreicht werden konnte (Abb.7). Die Größe des schnellen photoelektrischen Effekts zeigt eine starke Abhängigkeit von der Qualität des eingestrahlten Lichts. Wegen der Kleinheit der Reaktion war es nicht möglich, das Aktionsspektrum als Kompensationsspektrum aufzunehmen. Da die mit den Interferenzfiltern erreichbaren Amplituden des schnellen photoelektrischen Effekts im linearen Bereich der Reiz-Reaktionskurve lagen, wurde für jedes Filter mit der maximal erreichbaren Beleuchtungsstärke der Effekt gemessen und dann auf die gleiche eingestrahlte Quantenzahl

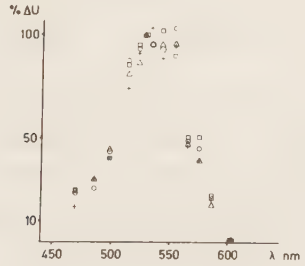


Abb.8. Aktionsspektrum des schnellen photoelektrischen Effekts. Die Meßwerte stammen von vier Zellen. Für das Spektrum jeder einzelnen Zelle wurde nach Umrechnung auf quantengleiches Licht der Wert für das Filter mit dem Durchlaßmaximum 528 nm gleich 100% gesetzt. Die Intensität der Lichtpulse (rotierende Sektorenblende), die Doppellinienfilter passiert hatten, lag bei 5×10^5 erg/cm^{2}s. Halbwertsdauer 25 ms. Ungefähr 5 Lichtpulse nach jeweils 3 min Dunkelheit. Die Reaktion auf den ersten oder zweiten Lichtpuls wurde gemessen.

umgerechnet. Ein Fehler könnte darin bestehen, daß sich die Reiz-Reaktionskurven für die einzelnen Lichtqualitäten anders verhalten als die für Weißlicht. Eine Prüfung wäre bei höheren Lichtintensitäten möglich. Abb.8 zeigt das gewonnene Aktionsspektrum der Reaktion. Das Maximum im Grünen tritt klar heraus. Zum Langwelligen hin war, auch mit Bandfiltern, keine Reaktion zu bemerken. Im kurzwelligen Bereich, jenseits der eingezeichneten Meßpunkte, wurden bei besonders empfindlichen Zellen noch sehr kleine Reaktionen registriert.

Die Untersuchung der Temperaturabhängigkeit des schnellen Effekts zeigte bei Temperaturabnahme ein starkes Ansteigen der Amplitude (Abb.9) und eine verlangsamte Repolarisierung. Die Zellen vertrugen eine Abkühlung bis auf ungefähr $+7^{\circ}C$ ohne Schädigung. Bei tieferen Temperaturen stieg das Vakuolenpotential meistens stark an und kehrte auch nach Erwärmen der Zelle nur sehr langsam auf seinen alten Wert (-150 bis -200 mV) zurück. Blieb die Temperatur über dem kritischen Wert, so konnte eine Zelle wiederholt gekühlt und erwärmt werden. Während die Amplitude des schnellen photoelektrischen Effekts bei fallender Temperatur wächst, wird das nach den Lichtpulsen in der Dunkelheit auftretende Depolarisationsmaximum kleiner und verschwindet bei $+15^{\circ}C$ schließlich ganz.

Die Amplitude des schnellen photoelektrischen Effekts zeigt eine Abhängigkeit von der Größe des Vakuolenpotentials. Steigt dieses, d.h. wird die Potentialdifferenz zwischen Vakuole und Seewasser kleiner, so nimmt die

Amplitude des schnellen photoelektrischen Effekts ab. Ich beobachtete das bei Veränderung des Vakuolenpotentials durch den langsamen Aus-Effekt und bei

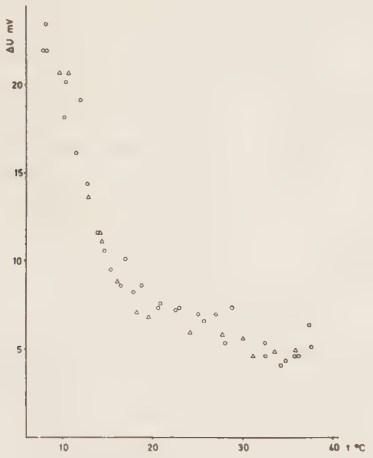


Abb.9. Die Abhängigkeit der schnellen Depolarisierung (Δ U) von der Temperatur. Meßwerte einer Zelle. o Abkühlung, □ Erwärmung und wiederum Δ Abkühlung. Halbwertsdauer der Lichtpulse 25 ms; Lichtintensität ungefähr 25×10^6 erg/cm^{2}s. Ungefähr 5 Lichtpulse nach jeweils 3 min Dunkelheit. Die Reaktion auf den ersten oder zweiten Lichtpuls wurde gemessen.

spontanen Depolarisationen. Ausführlich soll darüber gesondert berichtet werden.

Diskussion

Der Bericht von ARDEN et al. (1966a) über die alleinige Reaktion der grünen Bezirke der Coleus-Blätter und die

eigenen Messungen über die spektrale Abhängigkeit der langsamen Änderungen des Ruhepotentials bei An- und Abschalten des Lichts (SCHILDE 1966) ließen zunächst vermuten, daß der schnelle photoelektrische Effekt der Acetabularia eine Folge der Lichtabsorption durch Chlorophyll ist. Dies trifft aber nicht zu! Gerade bei Licht der Wellenlängen, die die Chlorophylle bevorzugt absorbieren, zeigt das Aktionsspektrum des schnellen photoelektrischen Effekts der Acetabularia keine oder fast keine Wirkung. EBREY (1968) gibt nach Voruntersuchungen für die spektrale Abhängigkeit der photoelektrischen Reaktion an Bohnenblättern eine gleich starke Wirkung des Lichts mit Wellenlängen zwischen 400 nm und 750 nm an. Infrarot war wirkungslos. In einem weiteren Experiment legte EBREY (1968) elektrische Spannungen an Bohnenblätter und nahm das Aktionsspektrum der photoelektrischen Reaktion an dem so polarisierten Blatt auf. Das Blatt sprach nur auf rotes Licht stärker an und zeigte auch im Infraroten eine kleine Reaktion. Der Autor kam zu dem Schluß, daß es sich bei den beiden Lichteffekten um verschiedene Reaktionen des Blattes handelt. Wichtig ist, daß die spektrale Empfindlichkeit keiner der beiden Reaktionen mit der der langsamen oder der des schnellen photoelektrischen Effekts der Acetabularia übereinstimmt und auch keine Ähnlichkeit mit der Absorptionskurve eines der verbreiteten Blattfarbstoffe hat. - Während die Aktionsspektren der schnellen und langsamen Rezeptorpotentiale und der photoelectric potentials sich untereinander alle sehr ähnlich sind und weitgehend mit dem Absorptions-

spektrums des Rhodopsins der entsprechenden Art übereinstimmen, besteht keinerlei Ähnlichkeit zwischen den Aktionsspektren der langsamen und der schnellen photoelektrischen Reaktion der Acetabularia. Überraschenderweise und völlig unerwartet zeigt das Aktionsspektrum des schnellen photoelektrischen Effekts aber einen sehr ähnlichen Verlauf wie die Aktionsspektren der photoelektrischen Reaktionen der Sinneszellen (CONE 1964; J.E.BROWN et al. 1967). - Sichere Hinweise auf den Farbstoff, der für die Absorption des wirksamen Lichts in der Acetabularia verantwortlich ist, haben wir nicht.

Die Amplitude der schnellen Depolarisierung nimmt bei Blitzfolgen nach einer längeren Dunkelperiode ab (Abb.6). Eine Adaptation beobachtete auch EBREY (1968) am Bohnenblatt und zeigt das ERP des Rattenauges (ARDEN et al. 1966b).

BROWN und MURAKAMI (1964b) hatten die Latenzzeit des ERP am Makaken zu höchstens 25 µs bestimmt. CONE (1967, extrazellulär gemessenes ERP) und J.E. BROWN et al. (1967, intrazellulär gemessenes PEP) stellten beide mit Blitzen sehr kurzer Anstiegszeit und hoher Intensität eine unmittelbare Potentialänderung mit dem Auftreten des Blitzes fest. EBREY (1968) gibt für die photoelektrische Reaktion des Bohnenblatts eine Latenzzeit von weniger als 100 µs an, die des schnellen photoelektrischen Effekts der Acetabularia beträgt 40 µs oder weniger. Die im Verhältnis zu den an tierischen Objekten beobachteten langen

Latenzzeiten des Blatts und der Alge dürften zum guten Teil auf der Verwendung von Blitzen beruhen, die ihr Maximum erst nach 250 µs erreichen. Es ist zu erwarten, daß durch schnelleransteigende Blitze und solche höherer Leistung wie beim ERP und PEP kürzere Latenzzeiten entdeckt werden.

Eine interessante Frage ist es, wo in der Zelle das den schnellen photoelektrischen Effekt der Acetabularia auslösende Licht absorbiert wird, und ob an diesem Ort auch die Quelle für die meßbare Potentialänderung liegt. Die Beobachtung, daß die Drosselung der Sauerstoffzufuhr wohl zum Verschwinden der späteren Phasen des Photorezeptorpotentials führt, das ERP aber weiterhin erscheint, hatte die Unabhängigkeit des ERP von der intakten Membran und der an ihr liegenden elektrischen Spannung vermuten lassen (BROWN und MURAKAMI 1964a; CONE 1964; Cold Spring Harbor Symposium 1965). Diese Ansicht wurde bestätigt durch die Beobachtung der ersten Phase des ERP noch bei $-35^{\circ}C$ und die Unempfindlichkeit des ERP gegen ein Umspülen der Froschretina mit isotonischer KCl-Lösung, die mit dem Membranpotential auch die a- und b-Phase des Retinogramms, aber nicht das ERP verschwinden läßt (PAK 1965; PAK und EBREY 1965). Es galt daher als sicher, daß das ERP nicht auf Ionenflüsse am Plasmalemma zurückgeführt werden kann (s. die Aufsätze von BROWN et al., CONE und PAK sowie die folgende Diskussion im Cold Spring Harbor Symposium 1965). Doch lokalisierten K.T.BROWN und CRAWFORD (1966) die Entstehung der zweiten Phase des PEP an der Zellmembran. Schließlich entdeckten SMITH

und BROWN (1966) durch intra- und extrazelluläre Messungen die umgekehrte Polarität des PEP auf beiden Seiten der Zellmembran der Retinulazellen des Lateralauges des Limulus. Dieses und die Abhängigkeit der Amplitude des PEP von der an der Zellmembran herrschenden Potentialdifferenz werteten SMITH und BROWN (1966) als sicheres Zeichen dafür, daß die Ursache des PEP ihren Sitz in der Zellmembran hat. - Da die Größe des schnellen photoelektrischen Effekts der Acetabularia gleichfalls eine Funktion des Ruhepotentials ist, können wir mit SMITH und BROWN die Quelle des schnellen photoelektrischen Effekts im Tonoplasten oder dem Plasmalemma suchen. Für die meisten der untersuchten Pflanzenzellen fällt der größte Teil der elektrischen Spannung zwischen dem Medium, in dem die Zelle schwimmt, und der Vakuole am Plasmalemma ab, doch gibt es auch Zellen mit einer beträchtlichen Spannung am Tonoplasten (SCHILDE 1968). Acetabularia wurde in dieser Beziehung noch nicht näher untersucht, und so können wir nur vermuten, daß am Plasmalemma als der Hauptionenbarriere der Zelle eine große elektrische Spannung herrscht, und daß die strukturelle Ursache des schnellen photoelektrischen Effekts dort ihren Sitz hat.

Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß BOSE (1907), WALLER (1925) und L. und M. BRAUNER (1938) an chlorophyllfreien Pflanzengeweben schon langsame photoelektrische Reaktionen beobachteten.

Die intrazellulären Messungen der photoelectric potentials am Limulusauge (SMITH und BROWN 1966; J.E.BROWN et al. 1967) zeigen oft eine nach dem Ende der Lichtpulse auftretende Hyperpolarisation. Eine ähnlich weit unter den ursprünglichen Wert hinausschießende Reaktion konnte ich nach Ende des Blitzes bei Acetabularia nie beobachten. Mit dem reichlichen Lichtgenuß bildet sich aber das Depolarisationsmaximum in der Dunkelphase und damit zwangsläufig zwischen diesem und dem Maximum des schnellen photoelektrischen Effekts ein Minimum. Der ganze Potentialverlauf ist dann also triphasisch.

Abkühlung der Acetabularia führt zu einer Vergrößerung der schnellen Depolarisation um das Mehrfache und bewirkt eine langsamere Repolarisierung. Dieses könnte auf einer Hemmung der Mechanismen beruhen, die die durch das Licht verursachten Veränderungen rückgängig machen. EBREY (1967; 1968) hatte an Bohnenblättern fast keinen Einfluß der Temperatur zwischen +60°C und -5°C feststellen können. ARDEN et al. (1966a) haben an Aegopodium ein Hervortreten der ersten Phase des PEP bei niedrigeren Temperaturen beobachtet. Damit verbunden verschwand die zweite Phase bei +16°C. Die Amplitude des schnellen photoelektrischen Effekts der Acetabularia nimmt sehr ähnlich bei niedrigen Temperaturen zu, und die dem Effekt im Dunkeln folgende Depolarisation und damit auch das Minimum verschwinden bei Abkühlung auf +15°C. Eine auffallende Übereinstimmung besteht mit dem ERP des Rattenauges. Die im Retinogramm bei +35°C kaum beobachtbare erste Phase des ERP tritt bei Abkühlung stark hervor (PAK und CONE 1964).

Die an einen schnellen An-Effekt anschließende langsame Depolarisation geht stufenlos in eine Hyperpolarisation über, das Vakuolenpotential unterschreitet den Wert vor dem Lichtbeginn (Abb. 1). Diese langsame Hyperpolarisation, der beim Abschalten des Lichts eine größere Depolarisation entspricht, ist eine Folge der Lichtabsorption durch die Chloroplasten (SCHILDE 1966). Das Aktionsspektrum des schnellen photoelektrischen Effekts spricht entgegen der Erwartung nicht dafür, daß das für diesen Effekt verantwortliche Licht gleichfalls durch die Chloroplasten absorbiert wird. Die Lokalisation der Quelle des schnellen photoelektrischen Effekts im Plasmalemma und die kurze Latenzzeit machen es unwahrscheinlich, daß das Licht durch die Chloroplasten absorbiert wird, von diesen ein oder mehrere Stoffe an das Plasmalemma diffundieren und dessen Struktur so verändern, daß der schnelle photoelektrische Effekt die Folge ist. Es ist naheliegend, eine direkte Wirkung des Lichts auf das Plasmalemma zu vermuten.

Die auffallende Übereinstimmung zwischen den an der Acetabularia beobachteten schnellen Photoeffekten, den early receptor potentials der Wirbeltieraugen und den photoelectric potentials der Retinulazellen im zeitlichen Verlauf, in der Notwendigkeit hoher Lichtintensitäten, Größe, Temperaturabhängigkeit und Aktionsspektrum läßt uns in den so verschiedenen Zellen eine Ähnlichkeit der zugrunde liegenden Mechanismen vermuten.

Herrn Professor Dr. E. Bünning danke ich für die Ermöglichung eines längeren Studiums und sein stetes Interesse am Fortgang der Arbeit, Herrn Dr. Varju für eine Diskussion der Probleme dieser Veröffentlichung, Herrn E. Sinner für die tatkräftige Unterstützung, den studentischen Hilfskräften D.Maier, M.Barth und F.Papentin für ihre Assistenz.

Herrn Professor Dr. H. Autrum bin ich für die Erlaubnis zur Herstellung des Elektrodenziehgeräts durch die Werkstatt des Zoologischen Instituts München sehr zu Dank verbunden, Herrn Professor Dr. W. Haupt für die Überlassung der benötigten Filter aus dem Bestand des Botanischen Instituts Erlangen.

Zusammenfassung

Intrazelluläre Messungen mit Glaskapillarelektroden zeigten eine vorübergehende Verkleinerung der elektrischen Potentialdifferenz zwischen dem die Zelle umgebenden Seewasser und der Vakuole durch helle Lichtblitze. Dieser schnelle photoelektrische Effekt hat eine Latenzzeit von kleiner als 40 µs. Das Licht wirkt über einen Farbstoff mit einem Absorptionsmaximum bei 540 nm. Mit fallender Temperatur wird der schnelle photoelektrische Effekt größer, während der in der anschließenden Dunkelphase folgende verschwindet. Farbstoff und Quelle des Effekts sind wahrscheinlich im Plasmalemma lokalisiert.

Literaturzitate

ARDEN, G.B., C.D.B.BRIDGES, HISAKO IKEDA and I.M.SIEGEL : Rapid light-induced potentials common to plant and animal tissues. Nature 212, 1235-1236 (1966a).

ARDEN, G.B., HISAKO IKEDA and I.M.SIEGEL : Effects of light-adaptation of the early receptor potential. Vision Res. 6, 357-371 (1966b).

BECKER, H.E. and R.A.CONE : Light-stimulated electrical responses from ski... Science 154, 1051-1053 (1966).

BETH, K. : Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen Acetabularia-Zellen. Z.Naturforsch. 8b, 334-342 (1953).

BLINKS, L.R. : Bioelectric potentials in Halocystis. VIII The effects of light. J.Gen.Phys. 23, 495-520, (1940).

BOSE, J.C. : Comparative electrophysiology. New York 1907.

BRAUNER, L. : Die Beeinflussung des Stoffaustausches durch das Licht. In : Handbuch der Pflanzenphysiologie Bd. II, 381-397. (Hrsg. Ruhland). Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1956.

BRAUNER, L. und M.BRAUNER : Untersuchungen über den photoelektrischen Effekt in Membranen. II. Istanbul Üniversitesi fen Fakültesi Mecmuasi (Istanbul). Yeni Seri Bd.3, 1-66 (1938).

BROWN, J.E., J.R.MURRAY and T.G.SMITH : Photoelectric potential from photoreceptor cells in ventral eye of Limulus. Science 158, 665-666 (1967).

BROWN, K.T. : An early potential evoked by light from the pigment epithelium-choroid complex of the eye of the toad. Nature 207, 1249-1253 (1965).

BROWN, K.T. and J.M.CRAWFORD : Physiologist 9, Nr.3 (1966), zitiert nach ARDEN et al. (1966a).

BROWN, K.T. and P.W.GAGE : An earlier phase of the light-evoked electrical response from the pigment epithelium-choroid complex of the eye of the toad. Nature 211, 155-158 (1966).

BROWN, K.T. and M.MURAKAMI : A new receptor potential of the monkey retina with no detectable latency. Nature 201, 626-628 (1964a).

BROWN, K.T. and M.MURAKAMI : Biphasic form of the early receptor potential of the monkey retina. Nature 204, 739-740 (1964b).

BROWN, S.O. : Relation between light and the electric polarity of Chara. Plant Physiol. 13, 713-736 (1938).

BÜNNING, E. : Bio-Elektrische Potentiale der Pflanzen. In: Tabulae Biologicae XIV, Teil 1, 51-76 (Hrsg. W.Junk et al.), Junk, Den Haag, 1937.

BURCKHARDT, D. : Ultramikroelektroden aus Glas, ihre Herstellung und Verwendung bei elektrophysiologischen Messungen. Glas-Instr.-Technik 3, 115-122 (1959).

Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology 30, 457-504 (1965), die Aufsätze von K.T.BROWN et al., R.A.CONE, W.L.PAK und die folgende Diskussion.

CONE, R.A. : Early receptor potential of the vertebrate retina. Nature 204, 736-739 (1964).

CONE, R.A. : Early receptor potential : Photoreversible charge displacement in rhodopsin. Science 155, 1128-1131 (1967).

EBREY, T.G. : Fast light-evoked potential from leaves. Science 155, 1556-1557 (1967).

EBREY, T.G. : Characterization of the fast light-evoked electrical responses from leaves. Photochemistry and Photobiology 7, 297-309 (1968).

GLASS, H.B. : Effect of light on the bioelectric potentials of isolated Elodea leaves. Plant Physiol.8, 263-274 (1933).

HAAKE, O. : Über die Ursachen electrischer Ströme in Pflanzen. Flora 75, 455-487 (1892).

HÄMMERLING, J. : Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch.Protistenk. 97, 7-56 (1944).

MARSH, G. : The photoelectric effect in Valonia. Carnegie Inst.Wash. Year Book 35, 89-90 (1936).

MARSH, G. : The effect of light on the inherent e.m.f. of Valonia ventricosa. I. Intensity and time relations. Papers from Tortugas Laboratory 32, 65-84 (1939).

MARSH, G. : The effect of light on the inherent e.m.f. of Valonia ventricosa. II. The relative energy absorption spectrum. Papers from Tortugas Laboratory 32, 99-120 (1940).

MOHR, H. und G.SCHOSER : Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta (Berl.) 53, 1-17 (1959).

MOHR, H. und G.SCHOSER : Eine mit Xenonbögen ausgerüstete Interferenzfilter-Monochromatoranlage für kurzwellige sichtbare und langwellige ultraviolette Strahlung. Planta (Berl.) 55, 143-152 (1960).

NAGAI, R. and M.TAZAWA : Changes in resting potential and ion absorption induced by light in a single plant cell. Plant and Cell Physiol. 3, 323-339 (1962).

NISHIZAKI, Y. : Physiological studies on photoelectric response by the light of different wave length in green leaves. Science Reports of the Research Institutes, Tohoku University 11, 9-15 (1960).

PAK, W.L. : Some properties of the early electrical response in the vertebrate retina. Cold Spr.Harb. Symp. Quant.Biol. 30, 493-499 (1965).

PAK, W.L. and R.A.CONE : Isolation and identification of the initial peak of the early receptor potential. Nature 204, 836-838 (1964).

PAK, W.L. and T.G.EBREY : Visual receptor potential obseved at sub-zero temperatures. Nature 205, 484-486 (1965).

SCHILDE, C. : Zur Wirkung des Lichts auf das Ruhepotential der grünen Pflanzenzelle. Planta (Berl.) 71, 184-188 (1966).

SCHILDE, C. :"Elektrophysiologie der Zelle" in Fortschritte der Botanik Bd. 30. (Hrsg. H.ELLENBERG et al.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1968.

SMITH, T.G. and I.E.BROWN : A photoelectric potential in invertebrate cells. Nature 212, 1217-1219 (1966).

WALLER, A.D. : The electric effects of light upon green leaves. Proc.Roy.Soc., London, 67, 129-137 (1900).

WALLER, J.C. : Plant electricity. I. Photo-electric currents associated with the activity of chlorophyll in plants. Ann.Bot. 39, 515-538 (1925).

WALLER, J.C. : Plant electricity.II. Towards an interpretation of the photoelectric currents of leaves. New Phytol. 28, 291-302 (1929).

Lebenslauf

Als Sohn der Eheleute Gertrud und Friedrich Schilde am 5.Oktober 1935 in Potsdam geboren, wuchs ich in Babelsberg auf und besuchte dort die Volks-, Einheits- und Oberschule. Ein Jahr vor dem Abitur wurde ich aus weltanschaulichen Gründem von der Schule verwiesen, ging nach West-Berlin und legte dort im März 1955 an der Rheingauschule die Reifeprüfung ab. Nach Arbeit im Gartenbau und als Rohrlegerhelfer ließ ich mich im Herbst 1955 an der Freien Universität Berlin als Student der Botanik immatrikulieren. Im Sommersemester 1958 ging ich nach Tübingen und widmete mich hier dem Studium der Biologie. 1960 wurde ich in die Studienstiftung des Deutschen Volkes aufgenommen. Das Staatsexamen mit den Fächern Biologie, Physik und Chemie bestand ich 1964. Als Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle am Botanischen Institut in Tübingen begann ich mit Experimenten zur Elektrophysiologie der Pflanzen.
Im Mai 1967 ehelichte ich die Kandidatin der Naturwissenschaften Fräulein Lieselotte Rentschler.
Während meines Studiums führten mich Reisen in die Türkei und nach Syrien, nach Finnland und Lappland, auf die Aeolischen Inseln, Sizilien, Tunesien und nach Teneriffa.

Meine akademischen Lehrer waren:

E.Bünning, D.Burckhardt, F.Eberhardt, H.Friedrich-Freksa, F.Huber, F.Kaudewitz, H.Krüger, G.Melchers, H.Metzner, H.Mohr, E.Müller, W.Reichardt, W.Ulrich, E.Werdermann.

Tag der mündlichen Prüfung: 2.Juli 1968

Dekan: Prof. Dr. H. Blume

1. Berichterstatter: Prof. Dr. E. Bünning
2. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Metzner
3. Berichterstatter: Dozent Dr. D. Varjú